

## Csíranövények gázanyagcsere folyamatainak nyomon követése kvadrupol tömegspektrométerrel

MURÁNYI ATTILA, PÁRTAY GÉZA és LUKÁCS ANDRÁS

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

Módszertani kutatásaink során a fiatal csíranövények által a környezetükben okozott gázanyagcsere folyamatok jellemzésére törekedtünk. E feladat megoldására kvadrupol tömegspektrométert használtunk. A kvadrupol tömegspektrométer alkalmazásának legfontosabb előnye, hogy a gázfázisban tapasztalható változások folyamatos nyomon követését teszi lehetővé, s emiatt a lejátszódó gázanyagcsere folyamatok jellemzésének kiváló eszköze. E technikát elsősorban a változások követésére és nem az abszolút gázmennyiségek meghatározására fejlesztették ki.

Évek óta folytatunk gázanyagcsere vizsgálatokkal kapcsolatos kutatásokat kvadrupol tömegspektrométerrel (NÉMETH et al., 1994; PÁRTAY, 1991; PÁRTAY et al., 1992, 1994, 1996a,b). Vizsgálatainkat olyan fejlettségi fokban lévő növényeken végeztük, melyek dimenziói lehetővé tették a szonda beültetését a növénybe és így a vizsgálni kívánt növényi stresszállapotot detektálni tudtuk.

Mostanáig azonban nem tanulmányoztuk a fiatal csíranövények anyagcsere folyamatait. A fiatal növények talajkörnyezetében lejátszódó folyamatok megismerése azért fontos, mert az intenzív növekedési fázisban lévő csíranövény jelentős változásokat okoz a gyökér/talaj határrétegben. Ugyanakkor azt is meg kell jegyezni, hogy a csíranövények gázcsere folyamatai kevésbé ismertek (GLINSKI & STEPNIEWSKI, 1985).

### Anyag és módszer

A kvadrupol technika lehetővé tette, hogy a csíranövény gázanyagcsere folyamatait zárt térben, a folyamat megszakítása vagy zavarása nélkül nyomon követhessük. Kísérleteinkhez - amelyek az OTKA T013214 szerződés támogatásával folytak - egy martonvásári erdőmaradványos csernozjom talajt választottunk. A nem-karbonátos, agyagos vályog mechanikai összetételű talaj pH értéke 6,85 volt.

A légszáraz talajból desztillált víz segítségével aggregátumot készítettünk. Az aggregátum 90 %-át az alkalmazott üvegedénybe töltöttük, erre a magágyra

vetettük a magokat. A maradék 10 % aggregátummal letakartuk a magokat, majd desztillált vízzel beállítottuk a nedvességtartalmat. Az üvegedényeket gumidugóval légmentesen lezártuk. A gumidugón keresztül vezettük be a gázérzékelő szondákat, valamint a belső hőérzékelő szenzorokat. A rendszer bolygatlan maradt a kísérlet végéig. A vizsgálatok időtartamát a csírázás és a gyökernövekedés korai szakaszára, 2-3 hétre, terveztük.

A kísérlet előtt a szondákat levegővel - mint normál körülmények között jól definiálható összetételű eleggyel - hitelesítettük. A szondák az előző kísérleti ciklusban (néhány hetes megszakításokkal) közel négy évig voltak talajokba beültetve. A mérések azt bizonyították, hogy a szondaállandók között csak hibahatáron belüli eltérések mérhetők. A hosszú idejű tartamkísérlet során a szondák aktív részét körülvevő permeábilis réteg - ami egyrészt biztosítja a gázdifúziót, másrészt a mérendő külső és a mért belső nagy nyomáskülönbségű teret választja el egymástól - sem anyagában, sem pórusméretében nem változott.

### *Monitoring kémcsőben*

A kísérleti módszer kidolgozása során első lépésként igen kis tömegű talajon neveltük a csíranövényeket, annak érdekében, hogy a talajban jól mérhető változásokat kapjunk és a kísérleteket kémcsőben végeztük. A kísérletet úgy terveztük meg, hogy a talajnak megfelelő legyen a nedvességtartalma, a kísérlet időtartama alatt a víz ne váljon korlátozó tényezővé. Ugyanakkor azt is figyelembe kellett vennünk, hogy a talajban megfelelő mennyiségű szabad levegő is legyen, ne alakulhassanak ki anaerob helyek. E két cél elérése együttes biztosítása érdekében 30 g víz/100 talaj nedvességtartalmat állítottunk be.

A légszáraz talajból aggregátumokat készítettünk: 15 ml desztillált vizet 100 g talajjal homogénen összekevertünk. 16 g nedves aggregátumot kémcsőbe bemértünk és 2 %-os Neomagnollal 2 percig fertőtlenített vetőmagot (24 szem mustármag, illetve 3 szem borsó) tettünk rá. A magvakat nedves aggregátummal beborítottuk, majd további 2,25 ml desztillált vízzel a talajfelszínt utánnedvesítettük. Az ily módon beállított nedvességtartalom 4,5 ml/15 g légszáraz talaj volt. A kémcsöveket beborítottuk alufóliával a talaj felszínéig. Bevezettük a kvadrupol tömegspektrométer szondáit a gumidugóval lezárt kémcsövekbe. A gázfázis változását a talajban és a talaj felett is vizsgáltuk. A növényeket laboratóriumi körülmények között neveltük 7 napig.

### *Monitoring lombikban*

A 250 ml-es Erlenmeyer lombikokba 20 g légszáraz talajból készített, 30 % nedvességtartalmú talajaggregátumot tettünk. 3 szem borsót, ill. 24 szem mustármagot vetettünk a talajba. A lombikot gumidugóval lezártuk, amelyen keresztül bevezettük a gázérzékelő mérőszondát. A gázanyagcsere folyamatokat a talajfelszín felett detektáltuk 6 napon keresztül.

A kadmiumkezelés hatását a mustármag csíranövények gázanyagcsere folyamataira két Cd-szint mellett vizsgáltuk. Az első esetben nagyon nagy dózist alkalmaztunk (6 ml 1 M CdCl<sub>2</sub> oldat/20 g talaj) és a kísérletet 7 napig folytattuk. A második esetben kisebb terhelési szintet állítottunk be (6 ml 0,001 M CdCl<sub>2</sub> oldat/20 g talaj) és a gázcsere folyamatok változását 19 napig követtük nyomon.

### A módszertani eredmények értékelése

#### *Monitoring kémcsőben*

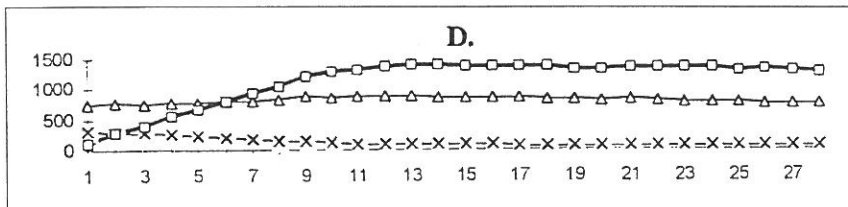
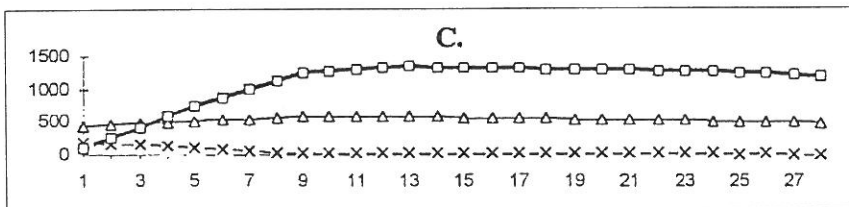
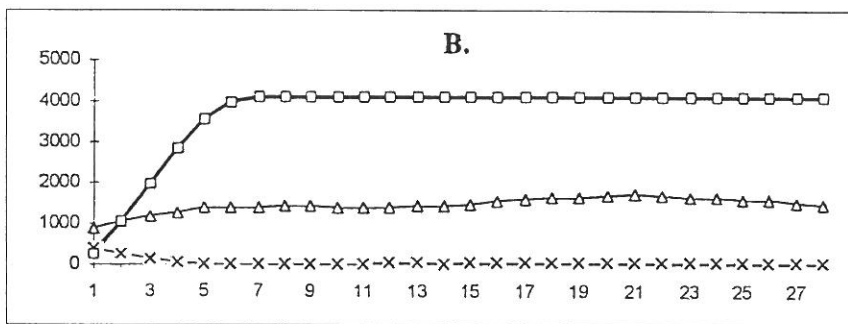
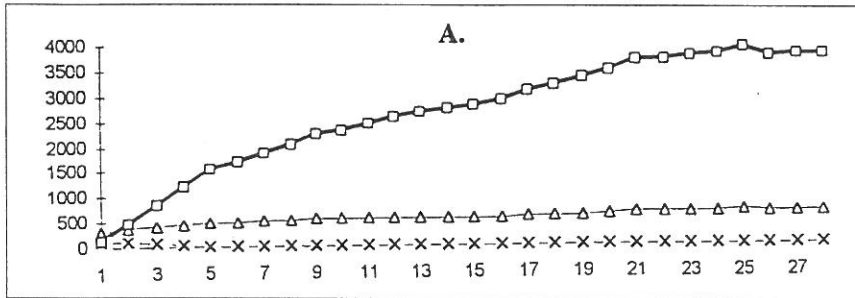
A kémcsőben tapasztalt változásokat az 1. ábrán mutatjuk be. Minden szondából 6 óránként vettünk gázmintát. A kísérlet kezdetétől eltelt időt a vízszintes tengely mutatja (egy egység megfelel 6 órának). A függőleges tengely az  $I/I_0$ -t mutatja, ami az egyes detektált gázok mennyiségének változását jelzi.

*Borsó jelzőnövény.* - Az eredmények azt mutatják, hogy az intenzíven fejlődő csíranövény igen gyorsan elfogyasztja a kémcsőben rendelkezésre álló O<sub>2</sub>-t. Az O<sub>2</sub>-t igen gyorsan felhasználják a csíranövények, a görbe lefutása elérte az x tengelyt. A levegő O<sub>2</sub>-tartalma mind a talajban, mind a talaj felett detektálva kb. 24 óra alatt elfogyott. A gyökérlégzés során keletkező CO<sub>2</sub> görbe az O<sub>2</sub> görbével ellentétes irányú lefutást mutat. A CO<sub>2</sub>-mennyiség változása a talaj felett igen jellegzetes telítési görbéhez tart, a görbe kb. két nap alatt elér egy telítési maximumot. A talajban mért változások során a CO<sub>2</sub>-tartalom lassabban éri el a telítési értéket, amit a gázdiffúzió kontrollja is magyarázhat. A talajba helyezett mikroszonda csak a saját közvetlen, néhány ml-es környezetét képes érzékelni, s a talaj gázfázis egyensúlyának teljes beállása után várható, hogy a szonda mikrokörnyezetében mért értékek is megközelítsék a telítési értéket.

A kísérlet befejeztét követően meghatároztuk a talaj pH értékét és a titrálható savanyúságot. A talaj eredeti pH értéke 6,85-ről lecsökkent 5,5-re, a titrálási savanyúság értéke 2,6 me/100 g volt. A 7 nap alatt tapasztalt erőteljes talaj-savanyodás a növény - O<sub>2</sub> hiány miatti - stresszállapotát indikálta.

*Mustár jelzőnövény.* - A mustár csíranövény esetében is hasonló tendenciákat tapasztaltunk. A csíranövény gázanyagcsere folyamatai lassabban játszódnak le. A mustár esetében két nap alatt fogy el az O<sub>2</sub> a talajban, a talaj feletti O<sub>2</sub> viszont nem éri el teljesen a x tengelyt a kísérlet időtartama alatt, mint a borsónál. A CO<sub>2</sub>-mennyiség kb. három nap alatt éri el a telítési értéket mind a talajban, mind a talaj felett. A mustár csíranövény által indukált változások eltérnek a borsóétól (1. ábra), ami az eltérő gyökérfejlődésnek is tulajdonítható. A mustár vékony szerteágazó gyökerei ugyanis átszövik a talajt, egyenletes változásokat idézve elő mind a talajban, mind a gázfázisban.

A mustár csíranövény esetében a talaj pH értéke 6,4-re csökkent le, valamint 0,4 me/100 g titrálható savanyúságot mértünk. A 24 szem (0,2 g) mustármagból kikelt csíranövények kisebb mértékű stressznek voltak kitéve a kémcsőben

I/I<sub>0</sub>

x6h

1. ábra

A csíranövények gázanyagcsere folyamatainak nyomon követése zárt kémcsőben.  
 A. Borsó - mérés a talajban, B. Borsó - mérés a talaj felett, C. Mustár - mérés a talajban, D. Mustár - mérés a talaj felett. Függőleges tengely: I/I<sub>0</sub> = relatív intenzitás.

Vízszintes tengely: Idő (x6h): a mérési pontok 6 óránként követik egymást

Jelmagyarázat: □: szén-dioxid, Δ: nitrogén; x: oxigén

lévő, kis tömegű talajon való fejlődésük során. A 3 db nagy borsószemnek (0,7 g) sokkal nagyobb megpróbáltatást, stresszt jelentett a korlátozott gáztérben és kevés talajon történő növekedés.

A kémcsőben végzett kísérletek során azt a következtetést vonhattuk le, hogy  
- az  $O_2$  hiány fellépte igen hamar, túl gyorsan bekövetkezik, aminek következtében a növény stresszállapotba kerül;

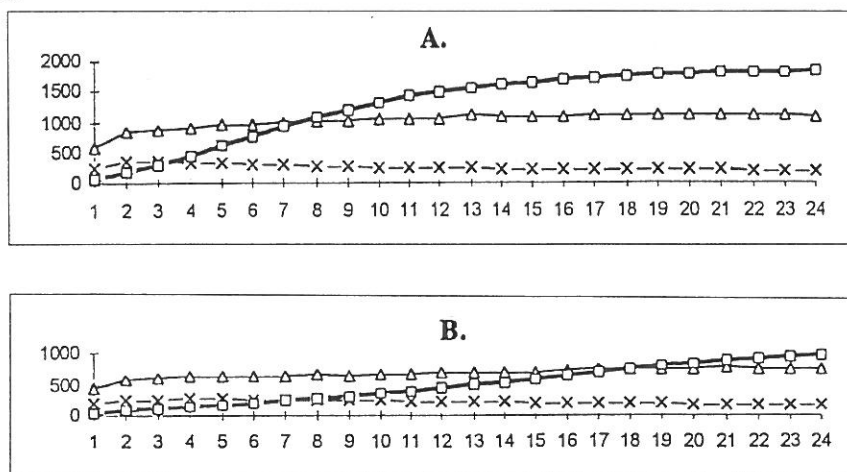
- a csíranövény gázanyagcsere folyamatainak keretében képződő  $CO_2$  detektálása a kvadropol tömegspektrométerrel mind a talajban, mind a talaj felett jól nyomon követhető, s mindkét esetben hasonló lefutást és telítési görbét kapunk.

### Monitoring lombikban

A csíranövény stresszállapotának megszüntetése érdekében a mérési módszert továbbfejlesztettük a gáztérfogat (15-szörösre) növelése révén. Egyúttal - az összehasonlító mérések alapján - áttértünk a talaj feletti gáztérben történő változások nyomon követésére.

**Borsó jelzőnövény.** - A kémcsőtérfogatról a 250 ml-es lombikra történő áttérés azt eredményezte, hogy a fejlődő borsó csíranövény  $O_2$ -igényét biztosítani tudtuk a kísérlet időtartama alatt (2. ábra). Az  $O_2$  mennyisége a kísérlet alatt valamelyest csökkent, de még a 6. napon is detektálható volt az oxigén a zárt

$I/I_0$



x6h

2. ábra

Borsó (A) és Mustár (B) csíranövények gázanyagcsere folyamatainak nyomon követése zárt lombikban. (Mérés a talaj felett). Jelmagyarázat, tengelyek: lásd 1. ábra

rendszerben. A  $\text{CO}_2$  fejlődés karakterisztikus trendet mutat, ami azt jelzi, hogy a  $\text{CO}_2$  mennyisége egyenletesen nő a rendszerben, s a kísérlet vége felé éri el a telítési értéket.

A kísérlet végén a talaj pH értéke 6,3, a titrálható savanyúság nagysága 0,6 me/100 g volt. A talaj savanyúságállapota azt jelzi, hogy a borsó mintegy negyedannyi savat bocsájtott ki a talaj környezetébe, a csíranövény a kísérlet időtartama alatt nem került stresszes állapotba.

*Mustár jelzőnövény.* - A mustár gázanyagcsere folyamatainak nyomon követése a borsóhoz hasonló tendenciákat mutat. Az  $\text{O}_2$  mennyisége a kísérlet során csökkent, de nem fogyott el a rendszerből. A  $\text{CO}_2$  mennyisége a csíranövény fejlődése során egyenletesen nőtt. A rendszer térfogatának megnövelése a csíranövények  $\text{O}_2$ -szükségletét kielégítette.

A talajban indukált változásokat a savanyúságállapottal jellemeztük. A talaj pH értéke 6,5, a titrálható savanyúság nagysága 0,7 me/100 g talaj volt. A mért értékek azt jelzik, hogy a csíranövények fejlődése a mustármagok esetén sem mutattak stresszállapotot, a megfelelő mennyiségű  $\text{O}_2$  jelenlétében a gyökérkörnyezetben tapasztalható savanyodás mértéke összhangban van eddigi tapasztalatainkkal.

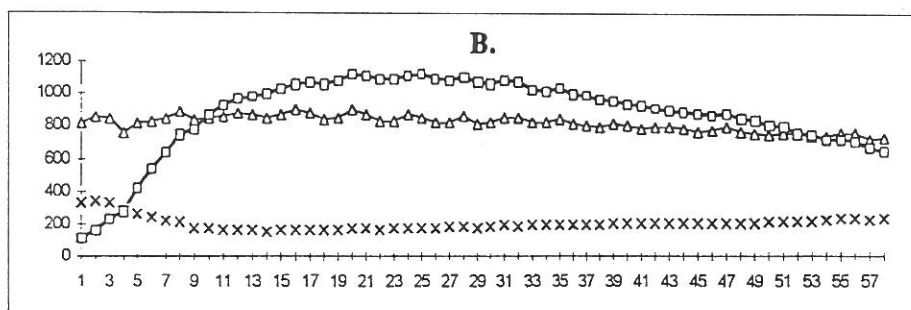
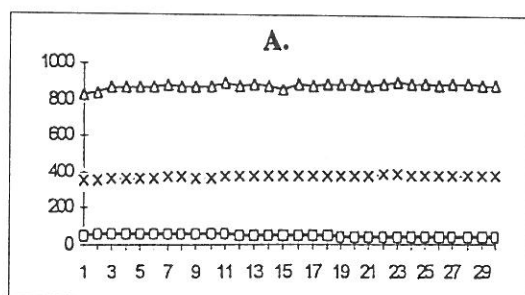
#### *Kadmiumkezelés hatása a gázanyagcsere folyamatokra*

Az igen nagy Cd-terhelés során 60 me Cd/100 g dózist alkalmaztunk, ami a martonvásári talaj S-értékének 2,5-szerese. A mustármagok ilyen kezelés esetén semmiféle gázanyagcsere folyamatot nem mutattak és a csírázás sem indult el, gázanyagcsere folyamatokat nem tudtunk detektálni (3. ábra).

A nagy dózisú kísérlet során detektált gázmennyiségek konstans volta viszont egyértelműen bizonyította a kidolgozott kísérleti módszer megbízhatóságát, a rendszer stabil működését az idő függvényében. Levonható tehát az a következtetés, hogy a kidolgozott kísérleti módszer alkalmas a gázanyagcsere folyamatok megbízható nyomon követésére.

A kisebb Cd-terhelés során (0,6 me Cd/100 g dózis) a csíranövény fejlődésnek indult (3. ábra). A 19 napig tartó kísérletsorozat folyamán a csíranövény gázcsere folyamatai jól detektálhatók voltak. Az első két napban az  $\text{O}_2$  mennyisége csökkent, miközben a  $\text{CO}_2$  mennyisége nőtt. A detektált  $\text{CO}_2$  kb. az 5. napon egy telítési értéket ért el, majd a görbe a továbbiakban egy igen enyhe csökkenést mutatott.

A gázanyagcsere folyamatok detektálásának befejezése után még két hétig hagytuk a csíranövényeket fejlődni. Ezt követően a kísérletet befejeztük és megmértük a talaj pH értékét, valamint meghatároztuk a titrálható savanyúság nagyságát. A talaj pH értéke 5,4, a titrálható savanyúság nagysága pedig 5,0 me/100 g volt. A titrálható savanyúság ilyen nagy értéke a csíranövény nagymértékű stresszállapotára utal.

$I/I_0$ 

x6h

## 3. ábra

Csíránövények (mustár) gázanyagcsere folyamatainak nyomon követése zárt lombikban különböző Cd-terheléseknél: A. 2 N  $\text{CdCl}_2$ -kezelés. B. 0,02 N  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ -kezelés. (Mérés a talaj felett.) Jelmagyarázat, tengelyek: lásd 1. ábra

## Összefoglalás

Kísérleti eredményeink alapján arra a következtetésre juthatunk, hogy a gázanyagcsere folyamatok és a gyökérkörnyezetben indukált talajsavanyodás együttes jellemzése kiváló lehetőséget teremt a növény stresszállapotának sokoldalú vizsgálatára, a talaj/gyökér határrétegben lejátszódó folyamatok megismeréséhez és leírásához.

Eddig elvégzett munkánk a kísérleti metodika megalapozását szolgálta.

## Irodalom

- GLINSKI, J. & STEPNIEWSKI, W., 1985. Soil aeration and its role for plants. CRC Press, Inc. Boca Raton. USA.
- NÉMETH, T. et al., 1994. The application of quadrupole mass spectrometry to assess the effects of sewage sludge on gas composition in undisturbed soil columns. In: Biogeochemistry of Trace Elements. (Ed.: ADRIANO, D. C., CHEN, Z. S. & YANG, S. S.) Special Issue, Journal of Environmental Geochemistry and Health. 16. 141-151.
- PÁRTAY G. 1991. Szimultán stresszvizsgálat kvadrupól tömegspektrométerrel. Országos Környezetvédelmi Konferencia, Balatonaliga, 1991. nov. 13-15. I. 139-145.
- PÁRTAY, G., LUKÁCS, A. & NÉMETH, T. 1994. Soil monolith studies with heavy-metal containing sewage sludge. Agrokémia és Talajtan. 43. 211-221.
- PÁRTAY G. et al., 1992. A gázfázis vizsgálata bolygatatlan szerkezetű talajoszlopban, kvadrupól tömegspektrométerrel. Agrokémia és Talajtan. 41. 299-321.
- PÁRTAY G. et al., 1996a. Nehézfém terheléses talajok gázfázis változásainak összehasonlító vizsgálata kvadrupól tömegspektrométerrel X. Országos Környezetvédelmi Konferencia, Siófok, 1996 szeptember 9-11. 198-207.
- PÁRTAY, G. et al., 1996b. Use of quadrupole mass spectrometry for soil and plant gas analysis in heavy metal polluted soil columns. Abstracts 26th Internat. Symp. on Environmental Analytical Chemistry, Vienna, April 9-12, 1996. TH 97.

*Érkezett: 1997. április 11.*



## Monitoring Gas Exchange Processes of Seedlings by Quadruple Mass Spectrometry

A. MURÁNYI, G. PÁRTAY and A. LUKÁCS

Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the  
Hungarian Academy of Sciences, Budapest

### Summary

The quadruple technique makes it possible to follow the gas exchange processes of seedlings in a closed system, too without interrupting or disturbing the processes. A non-calcareous chernozem soil from Martonvásár, with forest residues and a clayey loam mechanical composition (pH = 6.85), was chosen for the experiments.

In elaborating the experimental method the first step was to raise seedlings in a very small quantity of soil in order to be able to measure changes in the soil. The experiment was carried out in test-tubes. 16 g moist aggregate was measured in each test-tube and 24 mustard seeds or 3 pea seeds were placed on top. The seeds were then covered with moist aggregate and the moisture content was adjusted to 30% (4.5 ml/15 g air-dry soil). The test-tubes were wrapped in aluminium foil up to the soil surface. The quadruple mass spectrometer sensors were passed through the rubber stoppers closing the test-tubes. Changes in the gas phase were measured in and above the soil. The plants were raised under laboratory conditions for 7 days. After the experiment the titratable acidity of the soil was measured, characterizing the acidity released by plant roots.

The following conclusions were drawn from the results (Figure 1):

- Oxygen deficiency set in too early, leading to plant stress in case of pea seedlings.
- The  $\text{CO}_2$  formed during the gas exchange processes of the seedlings could be detected both in and above the soil with the quadruple mass spectrometer, and similar saturation curves were obtained in both cases.
- The plant seedlings acidified their soil environment. Pea seedlings released 26 mmol titratable acidity per kg soil, indicating their stress condition.

In order to prevent the seedlings from early  $\text{O}_2$ -deficiency and stress, the method was improved by increasing the gas volume 15 times. At the same time, due to the similarity in the comparative measurements, only changes in the gas space above the soil were recorded.

Soil aggregate composed of 20 g air-dry soil with 30% moisture content was placed in 250 ml Erlenmeyer flasks and 3 pea or 24 mustard seeds were sown in the soil. The flasks were closed with rubber stoppers, through which the gas sensors were passed. The gas exchange processes were detected above the soil surface for 6 days (Figure 2). The measured titratable acidity was 6 mmol/kg soil (pea seedlings) and 7 mmol/kg soil (mustard seedlings).

The effect of cadmium treatment on the gas exchange processes of mustard seedlings was examined at two Cd levels. In the first case a very large dose was applied (6 ml 1 M  $\text{CdCl}_2$  solution/20 g soil) and the experiment was continued for 7 days. In the second case a lower rate of contamination was chosen (6 ml 0.01 M  $\text{CdCl}_2$

solution/20 g soil) and changes in the gas exchange processes were monitored for 19 days. The  $O_2$  consumption and  $CO_2$  release is demonstrated on Figure 3. The plants were grown for a further 14 days and the titratable acidity was determined (50 mmol/kg soil) and indicated stress conditions.

The results lead to the conclusion that the joint characterization of gas exchange processes and the soil acidification induced in the root zone can be used for the complex investigation of plant stress, and for the examination and description of processes taking place in the soil/root boundary layer. The work carried out so far served to develop the experimental methods.

*Figure 1.* Detection of the gas exchange processes of seedlings in a closed test-tube. A. Pea - measurement in the soil; B. Pea - measurement above the soil; C. Mustard - measurement in the soil; D. Mustard - measurement above the soil. Vertical axis:  $I/I_0$ ; relative intensity. Horizontal axis: Time (x 6 h): measurements taken every 6 hours.  $\square$ : carbon dioxide;  $\Delta$ : nitrogen; x: oxygen.

*Figure 2.* Detection of the gas exchange processes of pea (A) and mustard (B) seedlings in a closed flask. (Measurement above the soil.) For axis and legends, see Figure 1.

*Figure 3.* Detection of the gas exchange processes of seedlings (mustard) in a closed flask at various Cd contamination levels. For axis and legends, see Figure 1.